第39卷 第5期
2022年9月

干 旱 区 研 究
ARID ZONE RESEARCH

Vol. 39 No. 5
Sep. 2022

矿井水对荒漠草原土壤微生物群落结构及多样性的影响

牟红霞[1]， 刘秉儒[2]， 李子豪[2]， 李国旗[1]， 麻冬梅[1]

（1. 宁夏大学生态环境学院/西北退化生态系统恢复与重建教育部重点实验室，宁夏 银川 750021；
2. 北方民族大学生物科学与工程学院，宁夏 银川 750021）

摘 要：为探究矿井水排放对荒漠草原土壤微生物群落结构及多样性的影响，以宁夏干旱风沙区矿井水排放地的荒漠草原为研究对象，通过高通量测序分析矿井水排放湖泊沿岸水滨区域（MJTA）、近岸陆域（MJTB）和自然区域（MJTC）土壤中0~10 cm、10~20 cm和20~30 cm土层中细菌和真菌群落组成，结合土壤理化因子等生境因素，揭示矿井水干扰对土壤微生物群落结构组成及多样性影响的主要因素。结果表明：（1）矿井水排放显著改变了土壤细菌和真菌的群落组成，对土壤细菌和真菌群落门水平相对丰度差异影响显著。（2）水滨区域、近岸陆域和自然区域中主要优势细菌门均为放线菌门（Actinobacteria）和变形菌门（Proteobacteria），主要优势细菌属均为：*norank_f__norank_o__norank_c__MB-A2-108*；水滨区域、近岸陆域和自然区域中主要优势真菌门均为子囊菌门（Ascomycota），水滨区域主要优势真菌属为*unclassified_c__Sordariomycetes*，近岸陆域和自然区域主要优势真菌属为光黑壳属（*Preussia*）。（3）矿井水外排导致荒漠草原水滨区域土壤盐分、水分显著高于近岸陆域和自然区域，盐分抑制了土壤细菌和真菌的生长，但同时促进了研究区嗜盐碱细菌的富集。（4）水滨区域土壤细菌和真菌多样性与丰富度均显著低于自然区域，进一步说明矿井水对土壤细菌和真菌丰富度与多样性影响显著；不同土层土壤细菌和真菌的丰富度与多样性差异较小；土壤环境因子与土壤细菌和真菌多样性分析表明土壤盐分、含水量、有机碳和pH是影响荒漠草原土壤细菌和真菌群落多样性的主要影响因子。

关键词：矿井水；荒漠草原；土壤；微生物群落；高通量测序

煤矿资源的开发极大推动了国民经济的发展，同时也带来了严重的生态环境问题[1]。例如，矿井水中含有大量重金属污染物[2]，已成为矿区主要的重金属污染源之一。矿井水在环境中具有强流动性和渗透性等特征，大量外排会对周围土壤理化性质造成影响，进而对生物多样性保护和生态系统服务产生重要影响[3]。其中，土壤微生物群落对环境变化敏感，能够敏感反应环境变化和人类活动干扰的影响[4-5]，是指示人类干扰和生态系统健康的重要生物学指标[6-8]。在干旱半干旱气候区，荒漠草原植物群落多样性低，降水量少且年际间波动频繁，生态系统抗干扰能力极其脆弱[9]；矿井水排放会导致周边土壤盐分含量增加，理化性质发生变化，次生盐碱化和环境污染加剧[3]，使原本脆弱的荒漠草原，对土壤生境恶化的修复能力急剧降低，从而影响其生态系统的稳定性与可持续发展[8]。

Newman等[10]研究发现，采矿有可能破坏矿区内外的水文平衡，改变水文地质性质，从而直接影响到矿区的生态环境。近几年国内外一些研究表明，矿井水的排放会对土壤微生物的群落结构和多样性均产生一定影响[11-14]。李启艳等[15]研究稀土矿废弃地植被恢复过程中土壤微生物演替，表明随着植被恢复年限增加，土壤微生物群落多样性及相对丰度降低。彭玙萍等[16]研究酸性矿山微生物群落多样性，表明矿山废水中微生物以典型的矿井废水中的微生物为主，包括严格自养的酸硫杆菌属（*Aci-*

收稿日期：2022-01-24； **修订日期：**2022-04-22
基金项目：国家重点研发项目——矿区生态修复与生态安全保障技术集成示范研究（2017YFC0504406）
作者简介：牟红霞（1996-），女，硕士研究生，主要从事植物生态学研究. E-mail: mou18309573621@163.com
通讯作者：刘秉儒. E-mail: bingru.liu@163.com

dithiobacillus)和钩端螺旋菌属(*Leptospirillum*),以及可异养生长的硫化杆菌属(*Sulfobacillus*)、铁质菌属(*Ferroplasma*)和嗜酸菌属(*Acidiphilium*)。于晓娟[17]发现矿井水的外排是影响周边土壤性质空间异质性的主要因素,土壤环境的改变势必影响微生物群落多样性。综上所述,矿井水排放将改变微生物群落组成降低其多样性。但是,有关矿井水外排对土壤微生物群落的影响的强度和范围研究较少,矿井水对荒漠草原土壤微生物群落结构及多样性的影响过程与机理尚不明确,因此探讨矿井水外排干扰下荒漠草原土壤养分与微生物群落结构及多样性的相关机理,对维持荒漠草原生态系统的长期稳定性具有重要意义。

本研究以宁夏干旱风沙区矿井水排放地的荒漠草原为研究对象,以自然区域(MJTC)为对照样地,通过高通量测序矿井水排放样地沿岸水滨区域(MJTA)和近岸陆域(MJTB)土壤中0~10 cm、10~20 cm和20~30 cm的细菌和真菌群落组成,并对其多样性进行分析,结合土壤理化因子等环境因素,揭示矿井水干扰对土壤微生物群落结构组成及多样性影响的主要因素,为矿井水外排对土壤污染进行有效修复及矿井水的合理排放利用提供理论依据和科学指导。

1　材料与方法

1.1　研究区概况

研究区位于宁夏灵武市马家滩镇西南荒漠草原矿井水排放地(37°45′N,106°44′ E,海拔1300~1390 m)。经测定,矿井水pH约8.05,氨氮含量约0.54 mg·L^{-1},总氮含量约0.52 mg·L^{-1},总磷含量约0.04 mg·L^{-1}, SO_4^{2-} 含量约3840 mg·L^{-1},Cl^-含量约3435 mg·L^{-1},总碱度169 mg·L^{-1}。该区地处中温带干旱气候区,具有典型的大陆性气候特征,昼夜温差大,干旱少雨。土壤质地为沙质土和疏松沙壤土,质地沙性大、结构松散、水稳团聚体小且持水保肥能力差,其植被主要以耐盐碱、耐瘠薄的碱蓬(*Suaeda glauca*)、盐爪爪(*Kalidium foliatum*)、盐角草(*Salicornia europaea*)、冰草(*Agropyron cristatum*)和黑沙蒿(*Artemisia ordosica*)为主。

1.2　试验设计和样品采集

样地选于未经其他人为干扰靠近矿井水排放一侧,由于矿井水外排导致其周边土壤垂直距离由近及远形成含盐量梯度,进而影响其不同区域植被类型分布。因此,可以分为0~20 m范围内水滨区域,优势植物为冰草;30~60 m范围内近岸陆域,优势植物为冰草和沙蒿;70~100 m范围内自然区域,优势植物为黑沙蒿;共3种滨岸类型。每个区域设置6个地势平坦,植被分布均匀,生长良好的15 m×10 m大样方,在每个大样方中按照五点取样法设置5个1 m×1 m的小样方。在每个小样方用土壤钻分别取0~10 cm、10~20 cm和20~30 cm的土样,最后将同一深度的5个小样方的土样混匀,同一深度2份,共计108份样品。一份装入经高压灭菌后带标签的冻存管,并立即放入-4 ℃的保温箱运回实验室,随后转移至-80 ℃冰箱保存,用于微生物群落测定;另一份样品装入自封袋中,带回实验室进行自然风干,并将土壤中植物碎屑和细根等杂质剔除,过筛后用于测定土壤的各项理化指标。

1.3　实验测定方法

土壤含水量通过烘干法测定,土壤pH通过水土比2.5:1悬液用PHS-3C酸度计测定。土壤盐分用称重法测量,土壤有机碳(SOC)采用重铬酸钾氧化-外加热法测定,土壤全氮(TN)采用elementer元素分析仪来测定,全磷(TP)采用NaOH熔融-钼锑抗比色法,速效磷(AP)采用$NaHCO_3$浸提-钼锑抗比色法测定[18]。

土壤微生物高通量测序:土壤DNA采用OMEGA土壤试剂盒提取;DNA纯度和浓度检测:NanoDrop2000;DNA完整性检测方法:1%琼脂糖凝胶电泳电压5V/cm,时间为20 min;PCR扩增:采用引物为338F(5’-ACTCCTACGGGAGGCAGCAG-3’)和806R(5’-GGACTACHVGGGTWTCTAAT-3’)扩增细菌16S rRNA基因V3-V4区;真菌ITS区进行扩增,引物序列用ITS1F(5’-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA-3’)和ITS2R(5’-GCTGCGTTCTTCATC GATGC-3’),每个样本3个PCR重复,将3个重复的PCR产物混合;使用2%琼脂糖凝胶电泳检测产物;PCR产物纯化使用AxyPrep DNA Gel Extraction Kit,将PCR产物用Quantus™ Fluorometer进行检测定量;按照每个样本的测序量要求,进行相应比例的混合;使用NEXTFLEX® Rapid DNA-Seq Kit进行建库,利用Illumina公司的Miseq PE300/NovaSeq PE250平台进行测序[19-22]。

1.4 数据分析

运用SPSS Statistics 25进行土壤理化指标单因素方差分析。Mothur指数分析细菌和真菌Alpha多样性指数;运用Qiime生成各分类学水平丰度;通过单因素重复测量方差分析,比较3个区域在门水平下细菌和真菌群落分布是否存在显著性差异,然后对有差异的物种进行post-hoc检验。运用R(version 3.3.1)进行Heatmap分析,通过Spearman计算环境因子与物种之间的相关系数。运用R语言vegan包中的NMDS分析来研究矿井水排放对土壤细菌和真菌群落组成的影响。运用R语言vegan包中CCA分析和作图,通过CCA分析来反映研究区细菌和真菌与环境因子间的关系。

2 结果与分析

2.1 土壤理化性质分析

由图1可知,矿井水显著改变土壤盐分、pH、有机碳、总磷、总氮和土壤含水量($P<0.05$)。土壤盐分表现为:水滨区域显著高于近岸陆域和自然区域($P<0.05$,图1a),而土壤pH表现为:水滨区域显著低于近岸陆域和自然区域($P<0.05$,图1b);土壤有机碳表现为:水滨区域>自然区域>近岸陆域($P<0.05$,图1c);总氮和总磷变化相似,均表现为:水滨区域和自然区域显著高于近岸陆域($P<0.05$,图1d,图1e);土壤含水量表现为:水滨区域>近岸陆域>自然区域($P<0.05$,图1g);而矿井水对土壤有效磷影响较小($P>0.05$,图1f)。

不同土层中土壤盐分、有机碳、速效磷含量和土壤含水量有明显变化。土壤盐分仅在水滨区域差异显著,表现为0~10 cm和20~30 cm显著高于10~20 cm(图1a);土壤有机碳含量在近岸陆域和水滨区域表现为10~20 cm显著高于20~30 cm,(图1c);土壤速效磷在3个区域均表现为随土层加深而显著降低(图1f);土壤含水量表现为随土层加深而显著升高(图1g);而不同土层中土壤pH值、土壤总氮、总磷变化较小(图1b,图1d,图1e)。

2.2 土壤细菌和真菌群落结构组成分析

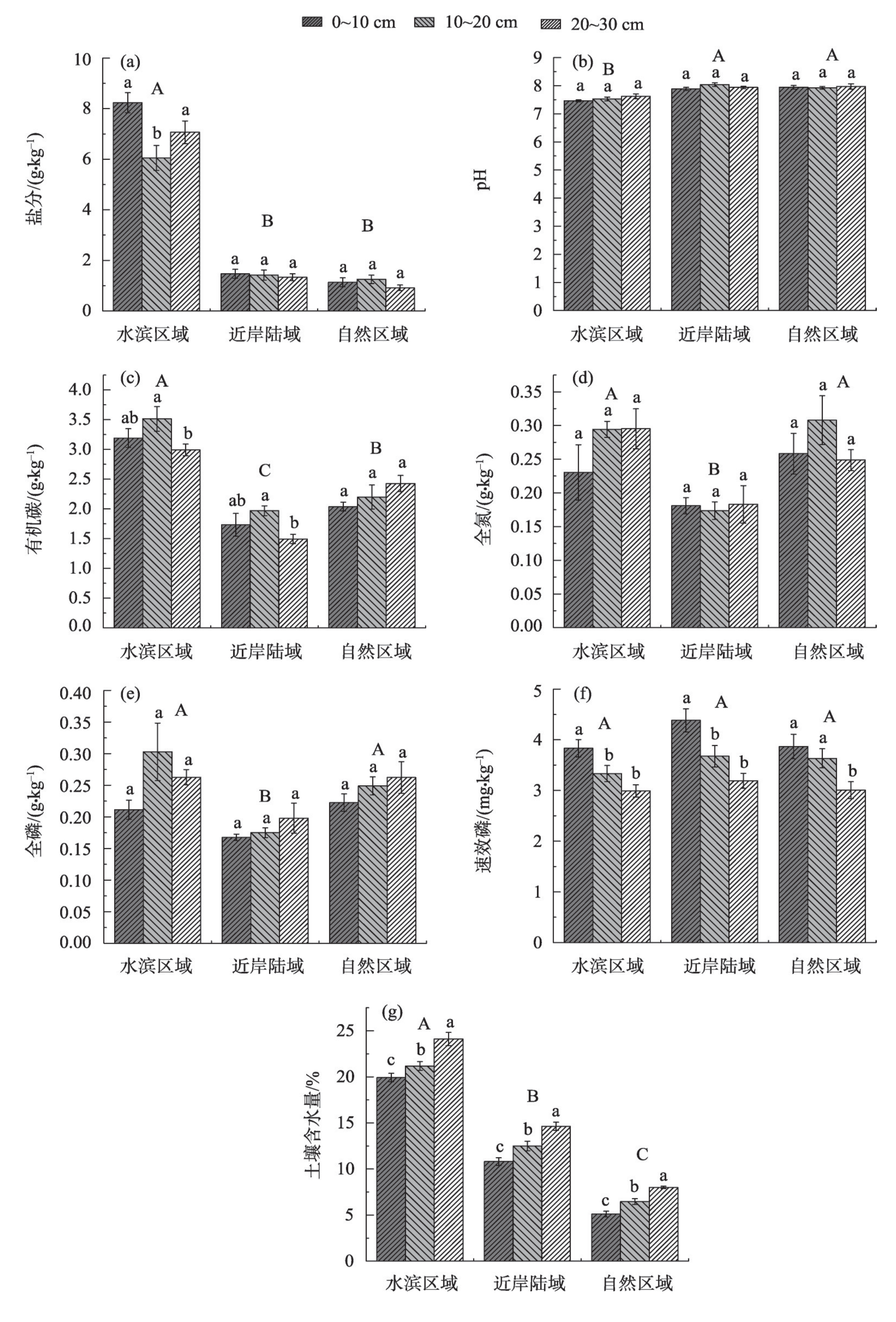
由图2可知,矿井水排放显著改变土壤细菌($P=0.001$)和真菌($P=0.001$)的群落组成;细菌群落相对丰度前10的门水平在不同区域结构组成相似度较高(图3a);其中丰度前10的门分别为:放线菌门(Actinobacteria)、变形菌门(Proteobacteria)、绿弯菌门(Chloroflexi)、酸杆菌门(Acidobacteria)、厚壁菌门(Firmicutes)、芽单胞菌门(Gemmatimonadota)、拟杆菌门(Bacteroidota)、粘球菌门(Myxococcota)、脱硫细菌门(Desulfobacterota)和Methylomirabilota。各细菌相对含量分析表明,放线菌门(33.94%)、变形菌门(19.93%)、绿弯菌门(11.93%)、酸杆菌门(7.52%)、厚壁菌门(6.84%)和芽单胞菌门(6.21%)为研究区主要细菌群落。

在真菌门水平上,丰度前10的真菌门类组成基本相同(图3b),丰度较高的门分别为:子囊菌门(Ascomycota)、担子菌门(Basidiomycota)、被孢菌门(Mortierellomycota)、壶菌门(Chytridiomycota)、隐真菌门(Rozellomycota)、球囊菌门(Glomeromycota);各样本中子囊菌门丰度高达54%以上,平均占比71.29%,担子菌门平均丰度为7.08%,结合相对含量分析,研究区优势真菌类群为子囊菌门;在水滨区域0~10 cm、10~20 cm和20~30 cm土层中均发现了隐真菌门,为水滨区域特有菌门。

门水平差异分析表明(图4),放线菌门相对丰度在水滨区域、近岸陆域和自然区域中差异均显著($P<0.01$),其中在水滨区域相对丰度最低,自然区域相对丰度最高。变形菌门相对丰度在自然区域显著低于水滨区域和近岸陆域($P<0.01$),在水滨区域和近岸陆域相对丰度无显著性差异;酸杆菌门相对丰度在水滨区域显著低于近岸陆域和自然区域($P<0.001$),在近岸陆域和自然区域相对丰度无显著性差异;厚壁菌门相对丰度表现为:水滨区域>近岸陆域>自然区域($P<0.01$);拟杆菌门相对丰度表现为:水滨区域显著高于近岸陆域和自然区域($P<0.01$),在近岸陆域和自然区域相对丰度无显著性差异;脱硫细菌门相对丰度表现为:水滨区域显著高于近岸陆域和自然区域($P<0.001$),在近岸陆域和自然区域相对丰度无显著性差异。

子囊菌门相对丰度仅在水滨区域显著低于近岸陆域($P<0.05$),被孢菌门相对丰度仅在水滨区域显著低于自然区域($P<0.05$),球囊菌门相对丰度仅在水滨区域显著低于自然区域($P<0.01$),隐真菌门相对丰度在水滨区域与近岸陆域、水滨区域与自然区域中差异均显著($P<0.05$)。

研究区细菌群落相对丰度前10的属分别为(图5a):*norank_f__norank_o__norank_c__MB-A2-108*、

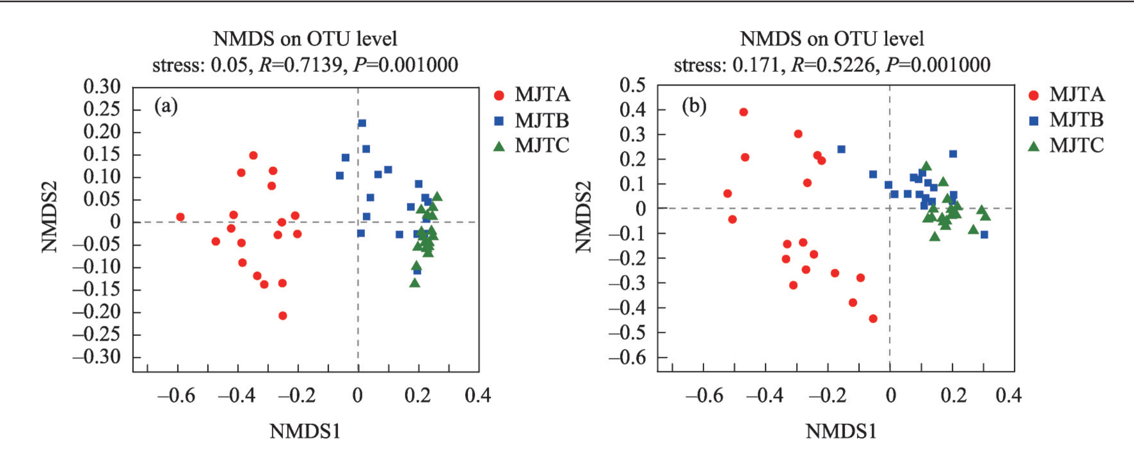


注:图中数据为平均值±标准误;不同小写字母代表不同土层深度,不同大写字母表示不同区域,在$P<0.05$水平下差异显著。下同。

图1　不同区域不同深度土壤理化指标

Fig. 1　Soil physical and chemical indexes at different depths in different regions

norank_f__norank_o__Gaiellales、芽单胞菌科中的一部分属水平的未定细菌(*norank_f__Gemmatimonadaceae*)、*norank_f__norank_o__Vicinamibacterales*、芽孢杆属(*Bacillus*)、*norank_f__67-14*、*norank_f__JG30-KF-CM45*、节杆菌(*Arthrobacter*)、*norank_f__norank_o__Actinomarinales*、*norank_f__norank_o*



注：MJTA表示水滨区域；MJB表示近岸陆域；MJTC表示自然区域。下同。

图2　土壤细菌和真菌的NMDS分析

Fig. 2　NMDS analysis of soil bacteria and fungi

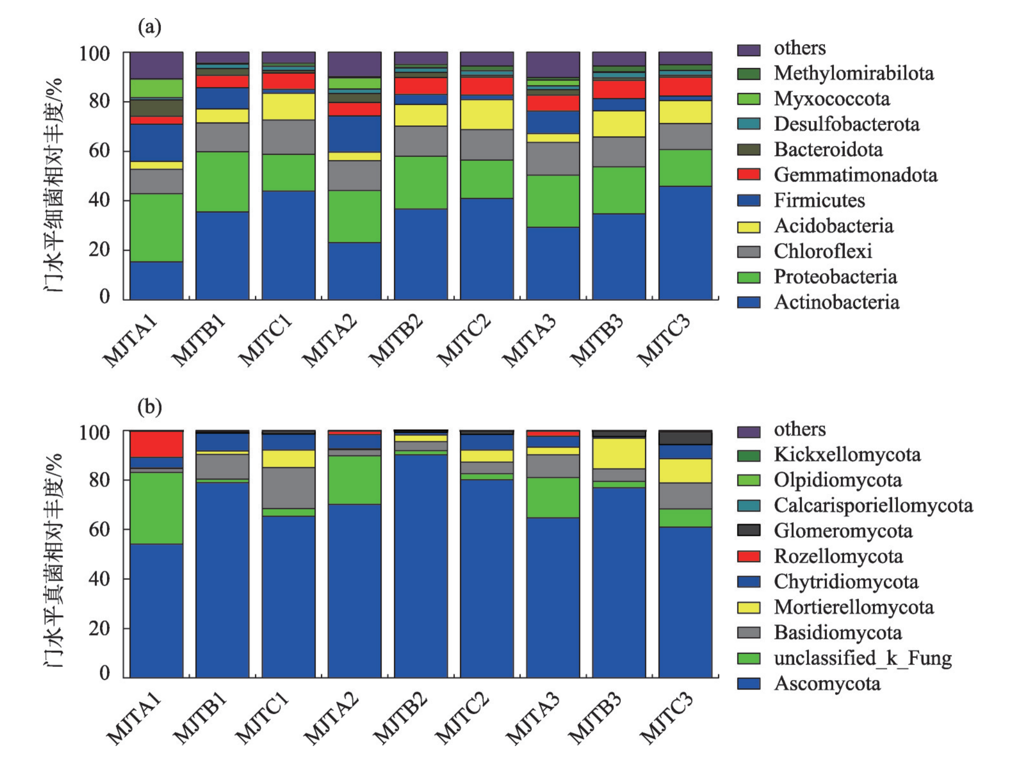


图3　土壤细菌和真菌门水平相对丰度

Fig. 3　Relative abundance of soil bacteria and fungi at the phylum level

__norank_c__KD4-96；其中，丰度前10的属水平细菌分类中有8个以norank作为标记，即没有科学名称，有大量未分类细菌，给本次研究细菌的生态功能带来了一定困难。水滨区域主要优势细菌属为*norank_f__norank_o__norank_c__MB-A2-108*（16.13%）、芽孢杆菌属（14.43%），近岸陆域主要优势细菌属为：*norank_f__norank_o__norank_c__MB-A2-108*（13.45%）、节杆菌属（13.43%），自然区域主要优势细菌属为：*norank_f__norank_o__norank_c__MB-A2-108*（26.47%）、*norank_f__norank_o__Gaiellales*（22.34%）。

真菌群落相对丰度前10的属分别为（图5b）：光黑壳属（*Preussia*）、*unclassified_p__Ascomycota*、*unclassified_c__Sordariomycetes*、被孢霉属（*Mortierella*）、绿僵菌（*Metarhizium*）、链格孢属（*Alternaria*）、*unclassified_p__Chytridiomycota*、*Monosporascus*、*Phaeo-*



图4 不同区域细菌和真菌门水平丰度差异

Fig. 4 Abundance differences at the bacterial and fungal phyla levels in different regions

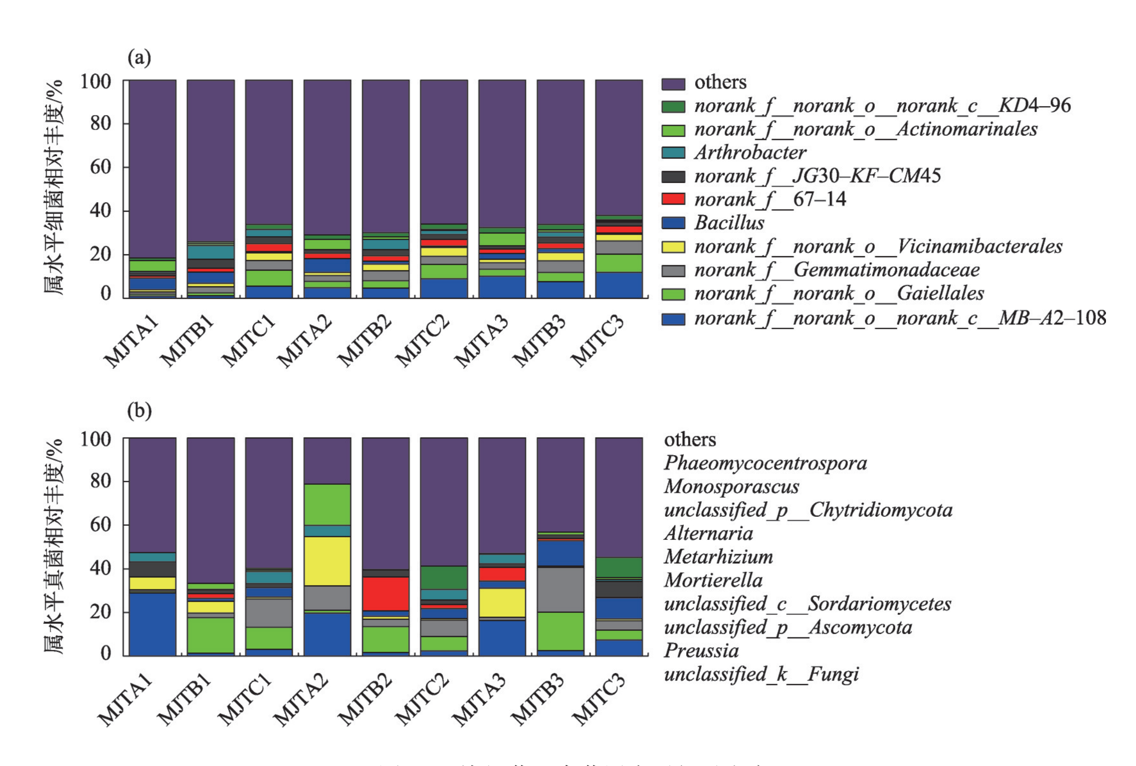


图5 土壤细菌和真菌属水平相对丰度

Fig. 5 Relative abundance of soil bacteria and fungi at the genus level

mycocentrospora。其中,水滨区域主要优势真菌属为*unclassified_c__Sordariomycetes*(41.76%)、*unclassified_p__Chytridiomycota*(13.62%),近岸陆域主要优势真菌属为:光黑壳属(45.69%)、*unclassified_p__Ascomycota*(25.88%),自然区域主要优势真菌属为:光黑壳属(21.14%)、*unclassified_p__Ascomycota*(24.47%)。

2.3 土壤细菌和真菌多样性指数分析

由图6可知,矿井水排放显著降低真菌和细菌的Shannon指数、Ace指数和Chao指数。细菌Shannon指数表现为:近岸陆域和自然区域显著高于水滨区域($P<0.05$),细菌Ace指数和Chao指数变化相似,均表现为自然区域显著高于水滨区域($P<0.05$)(图6a)。真菌Shannon指数表现为:自然区域显著高于水滨区域($P<0.05$),真菌Ace指数和Chao指数表现为:近岸陆域和自然区域显著高于水滨区域($P<0.05$)(图6b)。

细菌和真菌的Shannon指数、Ace指数和Chao指数在不同土层差异较小。细菌Ace指数和Chao指数仅在水滨区域表现为随土层加深而显著降低($P<0.05$);而真菌Ace指数和Chao指数仅在近岸陆域表现为随土层加深而显著降低($P<0.05$)。

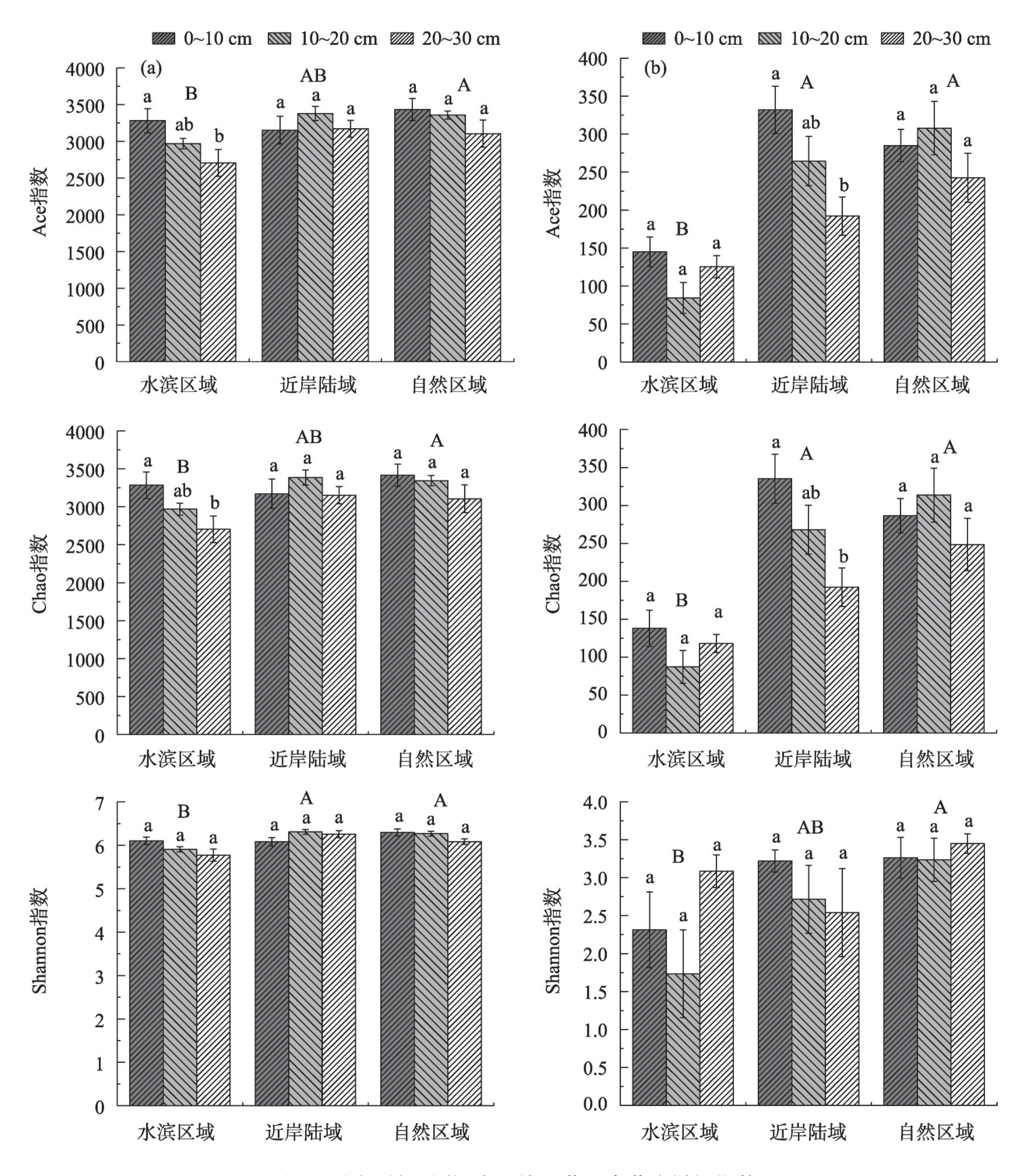


图6 不同区域不同深度土壤细菌和真菌多样性指数

Fig. 6 Diversity index of soil bacteria and fungi at different depths in different regions

2.4　土壤环境因子与土壤细菌和真菌门水平相关性分析

对门水平下真菌和细菌群落组成与土壤环境因子展开Spearman相关性分析(图7)，结果表明：土壤盐分与放线菌门、酸杆菌门、芽单胞菌门、粘球菌门和Methylomirabilota呈显著负相关，与变形菌门、厚壁菌门、拟杆菌门和脱硫细菌门呈显著正相关；土壤pH与放线菌门、酸杆菌门、芽单胞菌门、粘球菌门和Methylomirabilota呈显著正相关，与变形菌门、厚壁菌门、拟杆菌门和脱硫细菌门呈显著负相关；土壤含水量与放线菌门、酸杆菌门、芽单胞菌门、粘球菌门和Methylomirabilota呈显著负相关，与变形菌门、厚壁菌门、拟杆菌门和脱硫细菌门呈显著正相关；有机碳与放线菌门、酸杆菌门、粘球菌门和Methylomirabilota呈显著负相关，与厚壁菌门、拟杆菌门和脱硫细菌门呈显著正相关；全氮和全磷与变形菌门呈显著负相关关系，速效磷与个别细菌门类呈显著正相关或负相关关系(图7a)。

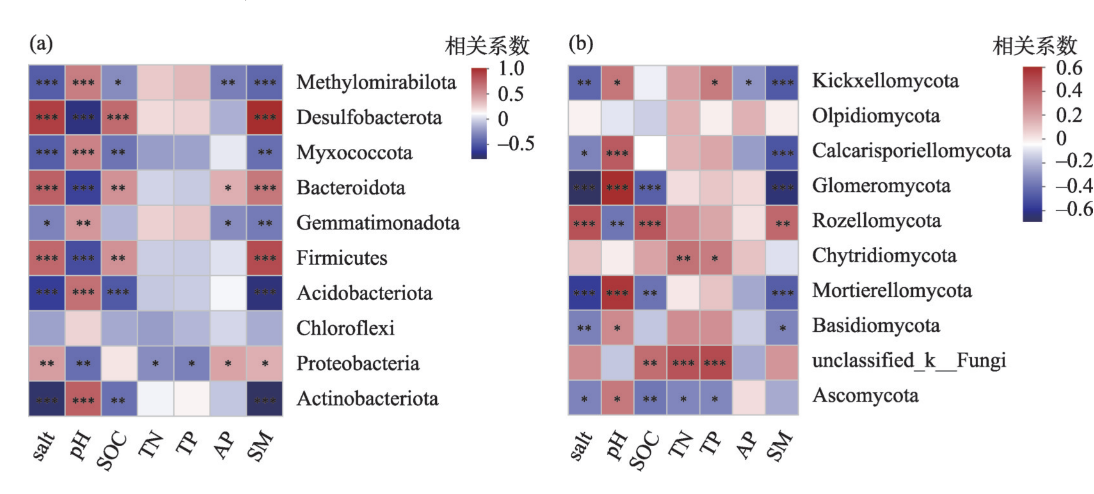
土壤盐分与担子菌门、被孢菌门、球囊菌门、梳霉门、Calcarisporiellomycota和子囊菌门均存在显著负相关关系，与隐真菌门存在显著正相关关系；土壤pH与子囊菌门、担子菌门、被孢菌门、球囊菌门、梳霉门和Calcarisporiellomycota均存在显著正相关关系，与隐真菌门存在显著负相关关系；土壤含水量与担子菌门、被孢菌门、球囊菌门、梳霉门和Calcarisporiellomycota均存在显著负相关关系，与隐真菌门存在显著正相关关系；有机碳与子囊菌门、被孢菌门和球囊菌门均存在显著负相关关系，与隐真菌门存在显著正相关关系；全氮、全磷和速效磷与个别真菌门类存在显著正相关关系或负相关关系(图7b)。

2.5　土壤细菌和真菌与土壤环境因子的CCA分析

Lengths of gradient第一轴大于3.5，因此采用CCA分析不同区域土壤细菌和真菌群落与环境因子间的关系。其中R^2代表环境因子对物种的影响程度(解释量)，R^2越大，环境因子指标箭头越长。细菌群落中，第1排序轴与土壤盐分、土壤含水量、土壤SOC呈负相关，相关系数分别为：−0.999、−0.998、−0.936，第1排序轴与pH呈正相关，相关系数为0.997；第2排序轴与TN、TP呈正相关，相关系数分别为：0.89、0.86，土壤盐分、土壤含水量、土壤SOC和土壤pH的R^2分别为0.87、0.70、0.68和0.58，P值均为0.001(图8a)。真菌群落中，第1排序轴与土壤盐分、土壤含水量、土壤SOC呈负相关，相关系数分别为：−0.986、−0.993、−0.997，第1排序轴与pH呈正相关，相关系数为0.992；第2排序轴与AP呈正相关，相关系数为0.957。土壤盐分、土壤含水量、土壤SOC和土壤pH的R^2分别为0.94、0.81、0.65和0.62，P值均为0.001(图8b)。即土壤盐分、土壤含水量、土壤SOC和土壤pH是影响研究区土壤细菌和真菌群落结构的主要影响因子。

3　讨论

矿井水对研究区土壤细菌和真菌群落门水平



注：salt表示土壤盐分；pH表示土壤pH；SOC表示土壤有机碳；TN表示土壤全氮；TP表示土壤全磷；AP表示土壤速效磷；SM表示土壤含水量。下同。

图7　土壤细菌和真菌群落门水平与环境因子相关性分析

Fig. 7　Correlation analysis between soil bacterial and fungus community levels and environmental factors

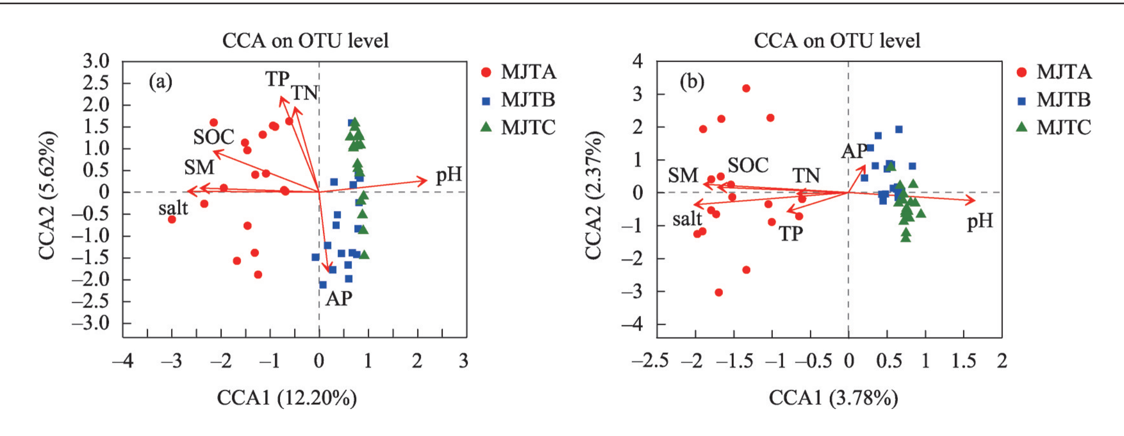


图8 土壤细菌和真菌群落-CCA分析

Fig. 8 Bacterial and fungal communities in soil-CCA analysis

相对丰度差异影响显著。研究区主要细菌类群为:放线菌门、变形菌门、绿弯菌门、酸杆菌门、厚壁菌门、芽单胞菌门和拟杆菌门,这些细菌门类均为盐碱土壤的主要细菌类群[23],也是矿废水沉积物中主要的细菌群落结构[24]。国内外相关研究表明,在盐碱土壤中,变形菌门为主要优势细菌类群[25-27],而本研究区土壤细菌中放线菌门占主导地位,说明在不同盐碱环境下土壤细菌的类群结构具有相似性,但主要优势群落会有所变化。有研究表明,在次生盐碱土中其优势细菌为放线菌门,这与本研究结果一致[23],说明放线菌门在研究区干旱盐渍化的土壤环境中具有十分重要的作用。放线菌门相对丰度在水滨区域显著低于近岸陆域和自然区域,这可能与大多数放线菌生活在含水量低、土壤呈微碱性的条件有关[28]。相关研究表明,变形菌门、厚壁菌门在硫酸盐还原过程中起着重要作用[29],本研究中水滨区域变形菌门、厚壁菌门的选择性富集可能与硫酸盐降解有关。水滨区域脱硫细菌门相对丰度显著高于近岸陆域和自然区域,这同样与水滨区域距矿井水排放地距离最近,矿井水中含有大量硫酸盐有关[30-31]。拟杆菌门相对丰度在水滨区域同样显著高于近岸陆域和自然区域,已有研究证实,在中碱性矿井水中其拟杆菌门含量较高[32-33]。芽孢杆属(*Bacillus*)隶属于厚壁菌门,具有良好的嗜盐碱特性,可以更好地在盐渍化且干旱环境中生长与繁殖[34],因此成为了研究区强有力的生存者。优势细菌属*norank_f__norank_o__norank_c__MB-A2-108*、节杆菌属、*Gaiella*属均隶属于放线菌,*Gaiella*属产生的多种抗生素,使土壤中大量储存抗生素产生菌资源更有利于其在逆境环境中生长繁殖[35]。属水平优势细菌进一步证明,放线菌门和变形菌门为研究区土壤中主要优势细菌门。

研究区主要真菌门为子囊菌门和担子菌门。但子囊菌门丰度远高于担子菌门,这是因为子囊菌门的进化速度和物种多样性比担子菌门更快更丰富[36],即子囊菌门对土壤的生态适应性较强,是土壤中最丰富的真菌类群,这与多数学者的研究结果一致[37-38]。在土壤微生物中,腐生真菌对有机质起到分解作用,子囊菌和担子菌是土壤中纤维素的主要真菌分解者[39-40],这对研究区生态系统的物质循环发挥着十分重要的作用。隐真菌门为水滨区域0~30 cm土层中特有菌门,这可能与水滨区域距矿井水排放地距离最近,土壤含水量较高具有一定关系[41]。优势真菌属中,光黑壳属、链格孢属、*Monosporascus*属、翅孢壳属均隶属于子囊菌,进一步表明,子囊菌门为研究区土壤中主要优势真菌门。翅孢壳属为耐盐碱菌属[42],内生真菌*Alternaria*能促进植物生长或提高盐耐受性能[43],对研究区耐盐碱植物有着抗逆、促生等作用。

矿井水对研究区土壤细菌和真菌丰富度与多样性影响均显著,降低了细菌和真菌丰富度与多样性,这与有的研究结果一致[44]。细菌和真菌丰富度与多样性均表现为水滨区域显著低于自然区域,这是因为土壤盐分、土壤含水量均在水滨区域显著高于近岸陆域和自然区域,本研究中,水滨区域土壤盐分的积聚虽然会促进嗜盐碱细菌的富集,但同时会抑制一些细菌的生长,真菌活性同样受到抑制甚至死亡[36],且研究区干旱少雨,蒸发量大于降水量,含水量过高会造成土壤板结,最终抑制了细菌和真菌的生长,因此水滨区域土壤细菌和真菌多样性与

丰富度显著低于近岸陆域和自然区域。

Spearman相关性分析表明,放线菌门与土壤与盐分呈极显著负相关关系,与土壤pH呈极显著正相关关系,与土壤有机碳、含水量呈极显著负相关关系,进一步表明放线菌门生活在含水量低,微碱性土壤中,是营养贫瘠型菌门,能够适应各种不利的条件。酸杆菌门与土壤pH呈极显著正相关关系,这一结论与多数研究结果相反[45-46],但也有研究发现,酸杆菌不同亚群相对丰度与土壤pH有不同的显著相关关系[47],在中碱性环境中发现酸杆菌门,其主要作用是降解植物残体,本研究中酸杆菌门平均相对丰度为7.52%,在研究区土壤生态过程中发挥着十分重要的作用。有学者研究表明,当土壤盐分含量较高时,变形菌门、厚壁菌门和拟杆菌门相对丰度较高[48-49],本研究结果也支持此结论,这些细菌门能降解各种污染物、复杂有机物和聚合物,在荒漠草原土地生态恢复过程中发挥着积极作用。土壤盐分与子囊菌门、担子菌门两大优势菌门均呈显著负相关关系,说明盐分对研究区真菌具有明显的抑制作用。土壤环境因子与土壤细菌和真菌多样性分析表明,土壤盐分、土壤含水量、土壤SOC和土壤pH是影响研究区土壤细菌和真菌群落多样性的主要影响因子。

4 结 论

(1) 矿井水排放显著改变了研究区土壤细菌和真菌的群落组成,对土壤细菌和真菌群落门水平相对丰度差异影响显著。

(2) 盐分抑制了水滨区域土壤细菌和真菌的生长,但同时促进了水滨区域嗜盐碱细菌的富集。

(3) 细菌和真菌丰富度与多样性均表现为水滨区域显著低于自然区域,进一步说明矿井水对土壤细菌和真菌丰富度与多样性影响显著。

(4) 土壤盐分、土壤含水量、土壤SOC和土壤pH是影响研究区土壤细菌和真菌群落多样性的主要影响因子。

参考文献(References):

[1] Manceau A, Merkulova M, Murdzek M, et al. Chemical forms of mercury in pyrite: Implications for predicting mercury releases in acid mine drainage settings[J]. Environmental Science and Technology, 2018, 52(18): 10286-10296.

[2] Mcdevitt B, Cavazza M, Beam R, et al. Maximum removal efficiency of barium, strontium, radium, and sulfate with optimum AMD-Marcellus flowback mixing ratios for beneficial use in the northern Appalachian Basin[J]. Environmental Science and Technology, 2020, 54(8): 4829-4839.

[3] Deng J, Bai X, Zhou Y, et al. Variations of soil microbial communities accompanied by different vegetation restoration in an open-cut iron mining area[J]. Science of the Total Environment, 2020, 20(704): 135243.

[4] Cruz-Paredes C, Wallander H, Kjøller R, et al. Using community trait-distributions to assign microbial responses to pH changes and Cd in forest soils treated with wood ash[J]. Soil Biology and Biochemistry, 2017, 112: 153-164.

[5] Steven B, Gallegos-Graves L V, Yeager C M, et al. Dryland biological soil crust cyanobacteria show unexpected decreases in abundance under long-term elevated CO_2[J]. Environmental Microbiology, 2012, 14(12): 3247-3258.

[6] Guo A, Zhao Z, Zhang P, et al. Linkage between soil nutrient and microbial characteristic in an opencast mine, China[J]. Science of the Total Environment, 2019, 671: 905-913.

[7] Yao H, He Z L, Wilson M J, et al. Microbial biomass and community structure in a sequence of soils with increasing fertility and changing land use[J]. Microbial Ecology, 2000, 40(3): 223-237.

[8] 安韶山, 李国辉, 陈利顶. 宁南山区典型植物根际与非根际土壤微生物功能多样性[J]. 生态学报, 2011, 31(18): 5225-5234. [An Shaoshan, Li Guohui, Chen Liding. Soil microbial functional diversity between rhizosphere and non-rhizosphere of typical plants in the hilly area of southern Ningxia[J]. Acta Ecologica Sinica, 2011, 31(18): 5225-5234.]

[9] Shen Y, Chen W, Yang G, et al. Can litter addition mediate plant productivity responses to increased precipitation and nitrogen deposition in a typical steppe?[J]. Ecological Research, 2016, 31(4): 579-587.

[10] Newman C, Agioutantis Z, Leon G B J. Assessment of potential impacts to surface and subsurface water bodies due to longwall mining[J]. International Journal of Mining Science and Technology, 2017, 27(1): 57-64.

[11] Valkanas M M, Trun N J. A seasonal study of a passive abandoned coalmine drainage remediation system reveals three distinct zones of contaminant levels and microbial communities[J]. Microbiology-Open, 2018, 7(4): e00585.

[12] He J W, Li W X, Liu J, et al. Investigation of mineralogical and bacteria diversity in Nanxi River affected by acid mine drainage from the closed coal mine: Implications for characterizing natural attenuation process-ScienceDirect[J]. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy, 2019, 217: 263-270.

[13] Sun S Y, Sun H, Zhang D S, et al. Response of soil microbes to vegetation restoration in coal mining subsidence areas at Huaibei Coal Mine, China[J]. International Journal of Environmental Research and Public Health, 2019, 16(10): 1757.

[14] 陈迪. 高硫煤废弃矿井微生物群落演替规律及铁硫代谢基因的功能预测[D]. 北京: 中国矿业大学, 2020. [Chen Di. Succession Rule of Microbial Communities and Function Prediction of Iron-sulfur Sulfur Metabolic Genes in High-sulfur Abandoned Coal Mines[D]. Beijing: China University of Mining and Technology, 2020.]

[15] 李启艳, 翁炳霖, 李宗勋, 等. 稀土矿废弃地植被恢复过程中土壤微生物演变[J]. 中国环境科学, 2019, 39(10): 4360-4368. [Li Qiyan, Weng Binglin, Li Zongxun, et al. Soil physicochemical characteristics and microbial evolution during vegetation restoration in ionic rare earth ore heap leaching waste land[J]. China Environmental Science, 2019, 39(10): 4360-4368.]

[16] 彭玙萍, 曾伟民. 紫金山铜矿酸性矿山废水微生物群落多样性[J]. 微生物学通报, 2020, 47(9): 2887-2896. [Peng Yuping, Zeng-Weimin. Diversity of microbial community in acid mine drainage from Zijinshan copper mine[J]. Microbiology Bulletin, 2020, 47(9): 2887-2896.]

[17] 于小娟. 矿废水排放湖泊沿岸土壤性质及AM真菌空间分布特征的研究[D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2020. [Yu Xiaojuan. Study on the Soil Properties and the Spatial Distribution Characteristics of Am Fungi along the Shore of the Mine Water Discharge Lake[D]. Yangling: Northwest A & F University, 2020.]

[18] 鲍士旦. 土壤农化分析[M]. 北京: 中国农业出版社, 2000. [Bao Shidan. Soil Agrochemical Analysis[M]. Beijing: China Agriculture Press, 2000.]

[19] Xu L, He N, Li X, et al. Local community assembly processes shape β-diversity of soil phoD-harbouring communities in the Northern Hemisphere steppes[J]. Global Ecology and Biogeography, 2021, 30(11): 2273-285.

[20] Magoč T, Salzberg S L. Flash: fast length adjustment of short reads to improve genome assemblies[J]. Bioinformatics, 2011, 27(21): 2957-2963.

[21] Edgar R C. UPARSE: highly accurate OTU sequences from microbial amplicon reads[J]. Nature Methods, 2013, 10(10): 996-998.

[22] Stackebrandt E, GOEBEL B M. Taxonomic note: a place for DNA-DNA reassociation and 16S rRNA sequence analysis in the present species definition in bacteriology[J]. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 1994, 44(4): 846-849.

[23] 孙建平, 刘雅辉, 左永梅, 等. 盐地碱蓬根际土壤细菌群落结构及其功能[J]. 中国生态农业学报, 2020, 28(10): 1618-1629. [Sun Jianping, Liu Yahui, Zuo Yongmei, et al. The bacterial community structure and function of *Suaeda salsa* rhizosphere soil[J]. Chinese Journal of Ecological Agriculture, 2020, 28(10): 1618-1629.]

[24] 程丽芬, 樊兰英, 张欣, 等. 山西左云县采煤区人工湿地冬季沉积物细菌群落多样性[J]. 微生物学通报, 2019, 46(12): 3181-3192. [Cheng Lifen, Fan Lanying, Zhang Xin, et al. Diversity of microbial community in winter at constructed wetlands sediment around coal mining area at Zuoyun, Shanxi Province[J]. Microbiology Bulletin, 2019, 46(12): 3181-3192.]

[25] 牛世全, 龙洋, 李海云, 等. 应用IlluminaMiSeq高通量测序技术分析河西走廊地区盐碱土壤微生物多样性[J]. 微生物学通报, 2017, 44(9): 2067-2078. [Niu Shiquan, Long Yang, Li Haiyun, et al. Microbial diversity in saline alkali soil from Hexi Corridor analyzed by Illumina MiSeq high- throughput sequencing system[J] Bulletin of Microbiology, 2017, 44(9): 2067-2078.]

[26] Ma B, Gong J. A meta-analysis of the publicly available bacterial and archaeal sequence diversity in saline soils[J]. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 2013, 29(12): 2325-2334.

[27] Canfora L, Bacci G, Pinzari F, et al. Salinity and bacterial diversity: to what extent does the concentration of salt affect the bacterial community in a saline soil?[J]. PLoS One, 2014, 9(9): e106662.

[28] 李明, 毕江涛, 王静. 宁夏不同地区盐碱化土壤细菌群落多样性分布特征及其影响因子[J]. 生态学报, 2020, 40(4): 1316-1330. [Li Ming, Bi Jiangtao, Wang Jing. Bacterial community structure and key influencing factors in saline soils of sites regions Ningxia [J]. Chinese Journal of Ecology, 2020, 40(4): 1316-1330.]

[29] Chen C, Xu X J, Xie P, et al. Pyrosequencing reveals microbial community dynamics in integrated simultaneous desulfurization and denitrification process at different influent nitrate concentrations[J]. Chemosphere, 2017, 171: 294-301.

[30] 李彬, 杨爱江, 胡霞, 等. 锑矿废水影响下水库沉积物中细菌群落结构特征研究[J]. 微生物学通报, 2021, 48(9): 2956-2971. [Li Bin, Yang Aijiang, Hu Xia, et al. Bacterial community structure in reservoir sediments under the influence of antimony ore waste water [J]. Bulletin of Microbiology, 2021, 48(9): 2956-297.]

[31] 杨珊珊, 张晓波, 陈邬锦, 等. 新疆三个不同盐碱地区土壤沉积物中细菌多样性分析[J]. 生物资源, 2021, 43(5): 453-460. [Yang Shanshan, Zhang Xiaobo, Chen Wujin, et al. Analysis of bacterial diversity in soil sediments of three saline alkali areas in Xinjiang[J]. Biological Resources, 2021, 43(5): 453-460.]

[32] 曹子敏, Joseph Frazer Banda, 裴理鑫, 等. 安徽某铁矿不同矿山废水库中微生物群落结构特征[J]. 微生物学报, 2019, 59(6): 1076-1088. [Cao Zimin, Joseph Frazer Banda, Pei Lixin, et al. Microbial community structure characteristics in different mine drainage lakes of an iron mine in Anhui Province[J]. Journal of Microbiology, 2019, 59(6): 1076-1088.]

[33] 单爱琴, 张燕婷, 肖洁, 等. 废弃矿井微生物群落演替特征实验研究[J]. 环境科学与技术, 2019, 42(4): 31-37. [Shan Aiqin, Zhang Yanting, Xiao Jie, et al. Experimental study of microbial community succession characteristics in abandoned mine groundwater[J]. Environmental Science and Technology, 2019, 42(4): 31-37.]

[34] 李善家, 王福祥, 从文倩, 等. 河西走廊荒漠土壤微生物群落结构及环境响应[J/OL]. 土壤学报, 2022. http: //kns. cnki. net/kcms/detail/32. 1119. P. 20220307. 1015. 002. html. [Li Shanjia, Wang Fuxiang, Cong Wenqian, et al. Microbial community structure and environmental response of desert soil in Hexi Corridor[J/OL]. Acta Pedologica Sinica, 2022. http: //kns. cnki. net/kcms/detail/32. 1119. P. 20220307. 1015. 002. html.]

[35] Zhao X, Liu H L, Yang P, et al. Effects of drip irrigation on bacterial diversity and community structure in rhizosphere soil of alfalfa[J]. Microbiology China, 2019, 46(10): 2579-2590.

[36] 王海英, 郭守玉, 黄满荣, 等. 子囊菌较担子菌具有更快的进化速率和更高的物种多样性[J]. 中国科学: 生命科学, 2010, 40(8): 731-737, 765-772. [Wang Haiying, Guo Shouyu, Huang Manrong, et al. Ascomycetes have a faster evolution rate and higher species diversity than Basidiomycetes[J]. China Science: Life Science, 2010, 40(8): 731-737, 765-772.]

[37] 颜培, 杜远达, 姜爱霞, 等. 黄河三角洲土壤真菌群落结构及互作网络对盐度的响应[J]. 分子植物育种, 2021, 19(11): 3818-3828. [Yan Pei, Du Yuanda, Jiang Aixia, et al. Response of soil fungal community structures and interaction networks to salinity in the Yellow River Delta[J]. Molecular Plant Breeding, 2021, 19(11): 3818-3828.]

[38] 王艳云, 郭笃发. 黄河三角洲盐碱地土壤真菌多样性[J]. 北方园艺, 2016(18): 185-189. [Wang Yanyun, Guo Dufa. fungal Diversity of saline alkali soil in Yellow River Delta[J]. Northern Horticulture, 2016(18): 185-189.]

[39] 何苑皞, 周国英, 王圣洁, 等. 杉木人工林土壤真菌遗传多样性[J]. 生态学报, 2014, 34(10): 2725-2736. [He Yuanhao, Zhou Guoying, Wang Shengjie, et al. Fungal diversity in *Cunninghamia lanceolate* plantation soil[J]. Acta Ecologica Sinica, 2014, 34(10): 2725-2736.]

[40] Yelle D J, Ralph J, Lu F, et al. Evidence for cleavage of lignin by a brown rot basidiomycete[J]. Environmental Microbiology, 2008, 10(7): 1844-1849.

[41] Frey S-D, Knorr M, Parrent J L, et al. Chronic nitrogen enrichment affects the structure and function of the soil microbial community in temperate hardwood and pine forests[J]. Forest Ecology and Management, 2004, 196(1): 159-171.

[42] 龚骏, 邢贝贝, 张倩倩. 隐真菌的研究进展[J]. 中国海洋大学学报(自然科学版), 2013, 43(11): 27-34. [Gong Jun, Xing Beibei, Zhang Qianqian. Researching progress of cryptomycota[J]. Journal of Ocean University of China (Natural Science Edition), 2013, 43(11): 27-34.]

[43] 刘德胜. 黄河三角洲盐碱地真菌多样性及活性次级代谢产物的初步研究[D]. 山东: 中国海洋大学, 2014. [Liu Desheng. Preliminary Study on Diversity of Fungi Derived from Coastal Saline Soil in Yellow River Delta and Active Secondary Metabolites of Five Fungi[D]. Shandong: Ocean University of China, 2014.]

[44] 丁翠. 酸性矿山废水污染胁迫下稻田土壤微生物菌群的演替[D]. 广州: 华南理工大学, 2019. [Ding Cui. Responses of Microbial Communities to Intrusion of Acid Mine Drainage in Paddy Soils[D]. Guangzhou: South China University of Technology, 2019.]

[45] 罗倩, 黄宝灵, 唐治喜, 等. 新疆盐渍土3种植被类型土壤微生物碳源利用[J]. 应用与环境生物学报, 2013, 19(1): 96-104. [Luo Qian, Huang Baoling, Tang Zhixi, et al. Carbon source utilization of microbes in saline soil of three vegetation types in Xinjiang, China[J]. Journal of Applied and Environmental Biology, 2013, 19(1): 96-104 .]

[46] 许修宏, 成利军, 许本姝, 等. 基于高通量测序分析牛粪堆肥中细菌群落动态变化[J]. 东北农业大学学报, 2018, 49(3): 10-20. [Xu Xiuhong, Cheng Lijun, XU Benshu, et al. Analysis of bacterial community dynamics in cow manure composting using high throughput sequencing[J]. Journal of Northeast Agricultural University, 2018, 49(3): 10-20.]

[47] 王光华, 刘俊杰, 于镇华, 等. 土壤酸杆菌门细菌生态学研究进展[J]. 生物技术通报, 2016, 32(2): 14-20. [Wang Guanghua, Liu Junjie, Yu Zhenhua, et al. Research progress of acidobacteria ecology in soils[J]. Biotechnology Bulletin, 2016, 32(2): 14-20.]

[48] Navarrete A A, Kuramae E E, Hollander, et al. Acidobacterial community responses to agricultural management of soybean in Amazon forest soils[J]. FEMS Microbiology Ecology, 2013, 83(3): 607-621.

[49] 赵娇, 谢慧君, 张建. 黄河三角洲盐碱土根际微环境的微生物多样性及理化性质分析[J]. 环境科学, 2020, 41(3): 1449-1455. [Zhao Jiao, Xie Huijun, Zhang Jian. Microbial diversity and physicochemical properties of rhizosphere microenvironment in saline-alkali soils of the Yellow River Delta[J]. Environmental Science, 2020, 41(3): 1449-1455 .]

Effects of mine water on soil microbial community structure and diversity in desert steppe

MOU Hongxia[1], LIU Bingru[2], LI Zihao[2], LI Guoqi[1], MA Dongmei[1]

(1. School of Ecological Environment/Key Laboratory for Restoration and Reconstruction of Degraded Ecosystems in Northwestern China of Ministry of Education, Ningxia University, Yinchuan 750021, Ningxia, China; 2. College of Biological Science and Engineering, North Minzu University, Yinchuan 750021, Ningxia, China)

Abstract: To investigate the influence of mine water discharge on soil microbial community structure and diversity in the desert grasslands of Ningxia, high-throughput sequencing was used to analyze the composition of bacteria and fungi communities in the 0−10, 10−20, and 20−30 cm soil layers along the shore, near-shore land, and natural areas of the mine water discharge lake. The main factors of the mine water influencing the soil microbial community structure and diversity were revealed by combining these factors with soil physical, soil chemical, and other habitat factors. The results show that the mine drainage in the study area significantly changed the community composition of soil bacteria and fungi as well as the relative abundance of the soil bacteria and fungi. The main dominant phyla of bacteria in the shoreland, coastal land, and natural areas were Actinobacteria and Proteobacteria, and the main dominant genus of bacteria was *norrank_f_norrank _ o _ norrank _ c _ MB-A2-108*. Ascomycetes was the main dominant phylum of fungi in the shoreland, coastal land, and natural areas, whereas *unclassified_c_Sordariomycetes* and *Preussia* were dominant in the shoreland area and the coastal land and natural areas, respectively. The drainage of mine water leads to significantly higher soil salinity and moisture in the waterfront area of desert grassland than in the coastal land and natural areas. Salt was found to inhibit the growth of soil bacteria and fungi but, at the same time, promoted the enrichment of halophilic bacteria in the study area. The diversity and richness of soil bacteria and fungi in shoreland areas are significantly lower than the corresponding values in natural areas, which further shows that mine water has a significant impact on the richness and diversity of soil bacteria and fungi. There was little difference in the richness and diversity of bacteria and fungi in the different soil layers. The analysis of soil environmental factors along with the diversity of soil bacteria and fungi showed that soil salinity, water content, organic carbon, and pH are the main influencing factors on the diversity of soil bacteria and fungi in the desert grasslands of Ningxia.

Keywords: mine water; desert steppe; soil; microbial community; high throughput sequencing